

ZUR CANCEROPROPHYLAKTISCHEN WIRKUNG
ACETYLIERTER HYDROXYÄTHYLRUTOSIDE

UWE MÜLLER

1986

*Duss
München*

us dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Forth

ZUR CANCEROPROPHYLAKTISCHEN WIRKUNG
ACETYLIERTER HYDROXYÄTHYLROSIDE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Uwe Müller

aus

München

München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr.med. Wolfgang Felix
Institutsdirektor:	Prof. Dr.med. Wolfgang Forth
Dekan:	Prof. Dr.med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 6.5.1986

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung	1
2-Acetylaminofluoren (2-AAF)	2
Hydroxyäthylrutoside	3
Methodik	4
Ergebnisse	6
Gruppe I a	6
Gruppe I b	11
Gruppe II	16
Gruppe III	20
Gruppe IV	24
Vergleich der Ergebnisse	27
Diskussion	35
Zusammenfassung	38
Literatur	39

Einleitung

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, nachzuprüfen, inwieweit Hydroxyäthylrutoside (HR) einen protektiven Effekt gegenüber der karcinogenen Wirkung von 2-Acetylaminofluoren haben.

Ausgangspunkt für eine derartige Frage waren die bislang vorliegenden Erkenntnisse über die Wirkungen von Hydroxyäthylrutosiden.

Im Tierversuch wurden die protektiven Effekte von HR auf Kapillarendothelien und auf die glatte Muskulatur nachgewiesen (Felix 1978, 1979). Bei diesen Versuchen wurden Kapillarendothelien durch Applikation von Noxen derart geschädigt, daß sie sich morphologisch veränderten und für Eiweiß durchlässig wurden. Durch eine Vorbehandlung mit HR konnte die schädigende Wirkung stark gehemmt werden. Auch die hämolysierende Wirkung von Saponinen und anderen Hämolytinen konnte durch HR stark reduziert werden. (Felix 1978, 1979, Biesendorfer et al. 1980, 1981).

Weitere Versuche zeigten eine Reduktion strahleninduzierter Früh- und Spätschäden der Haut, sowohl im Tierversuch als auch in der Praxis bei der radioaktiven Bestrahlung von Mammatumoren, nach vorheriger Gabe von HR (Fritz-Niggli 1980, Fischnamazzadeh 1983). Diese Versuche lassen den Schluß zu, daß HR eine unspezifische protektive Wirkung zeigt, indem es vor verschiedenartigen Noxen schützt und dabei gleichzeitig an verschiedenen Strukturen angreift. Da HR sehr schlecht fettlöslich ist, dringt es vermutlich nicht in die Zelle ein und kann somit seine Effekte nur an den biologischen Membranen zeigen. Um eine Membrandurchlässigkeit zu erreichen, hat man ein acetyliertes HR synthetisiert (Felix 1981). Bei Veresterung der Hydroxylgruppen nimmt die Fettlöslichkeit stark zu, die Wasserlöslichkeit geht zurück. Dieses peracetylierte HR (Ac-HR) wird zu 100% absorbiert und kann in die Zelle eindringen. Damit war die Voraussetzung für die Lösung der oben angegebenen Aufgabe geschaffen. Als nächster Punkt sollen die derzeit vorliegenden Kenntnisse über die Wirkungen von 2-Acetylaminofluoren (2-AFF) dargelegt werden.

2-Acetylaminofluoren (2-AAF)

Bereits 1941 wurde die Eigenschaft von 2-Acetylaminofluoren, Tumoren zu induzieren, bekannt (Wilson et al. 1941). In einer Reihe von Untersuchungen wurde festgestellt, daß es sich bei 2-AAF um ein systemisch wirkendes Karcinogen handelt, das zudem eine artspezifische Organotropie zeigt.

Ratten sind für Cancerisierungsversuche mit 2-AFF besonders gut geeignet. Um maligne Tumoren zu induzieren, ist eine chronische, am besten orale Applikation erforderlich. Die bei Ratten im Versuch am häufigsten verabreichte Dosis liegt bei 3 mg 2-AAF pro Tier. Diese Menge sollte täglich per Schlundsonde appliziert werden. Innerhalb einer Versuchsdauer von zwölf Monaten entstehen hauptsächlich Mamma-, Gehörgangs-, Harnblasen- und Intestinaltumoren. Seltener lassen sich Lungentumoren, Fibroadenome, Nierentumoren, Schilddrüsentumoren, Sarkome und Fibrome feststellen (Bielka 1966).

Über das Stoffwechselverhalten von 2-AAF liegen eine Reihe von Erkenntnissen vor. Schon 1952 stellten Miller und Miller fest, daß 2-AAF nach Verfütterung in der Leber fest gebunden wird. Neuere Untersuchungen von Miller (1970) ergaben, daß 2-AAF nach metabolischer Aktivierung an Leber-DNS, -RNS und -Proteine gebunden wird.

Untersuchungen von Pfohl-Leszkowicz und Mitarbeitern (1981) ergaben, daß 2-AAF durch seine Bindung an die DNS deren enzymatische Methylierung hemmt. Das 2-AAF wird an das C8-Atom von Guanin gebunden, und dadurch kommt es zu einer lokalen Destabilisierung der DNS-Helix. Durch die Bindung von 2-AAF an Guanin wird die Bewegung der Enzyme entlang der Helix blockiert. Somit können die Cytosine nicht enzymatisch methyliert werden. Diese substituierte DNS erweist sich auch als Inhibitor für die Methylierung nativer DNS. Das ist möglich, weil DNS-AAF eine höhere Affinität für die Enzyme aufweist als native DNS. Diese Hemmung ist irreversibel.

Die Methylierung der Cytosine ist die einzige bislang entdeckte Modifizierung der DNS höherer Eukaryonten nach der Replikation. Sie ist wahrscheinlich die Basis für mehrere Mechanismen wie z.B. Gen-Aktivität, zelluläre Differenzierung und Onkogenese (Borek und Srinivasan 1969, Scarano 1971, Riggs 1975).

Die DNS prämaligner Knoten zeigte ebenfalls eine zu geringe Methylierung, ebenso wie durch 2-AAF hervorgerufene Hepatocellulär-Karcinome (Lapeyre und Becker 1979).

Hydroxyäthylrutoside

Hydroxyäthylrutosid gehört zu einer Gruppe von Substanzen, die seit 1950 als Bioflavonoide bezeichnet werden (Ann. N.Y. Acad. Sci. 61, 639, 1955).

Die Flavonoide leiten sich ab von Flavon = 2-Phenyl-chromon oder 2-Phenyl-1,4-benzopyron.

Die wesentliche Wirkung der Flavonoide besteht in einer Herabsetzung der Kapillarfragilität (Steigerung der Kapillarresistenz) und einer Verminderung der Permeabilität der Gefäßwände (Felix 1978, Hammersen 1978). Obwohl die genauen Wirkungsmechanismen noch nicht völlig geklärt sind, liegen zumindest über einen Teil der Fähigkeiten der Flavonoide gesicherte Erkenntnisse vor. Sie sind in der Lage, Sauerstoff aufzunehmen und somit als Antioxidans zu wirken. Auf diese Weise schützen sie z.B. Ascorbinsäure vor oxidativer Zerstörung (Gábor 1978). Ferner sind sie fähig zur Chelatbildung und können dadurch Reaktionen unterbinden, die durch Metalle katalysiert werden. Bekannt sind hemmende Einflüsse auf eine ganze Reihe von Enzymen, wie z.B. Tyrosin-Decarboxylase, Xanthin-Oxidase, Succin-Oxidase, Glukose-6-Phosphatase; Cholin-Acetylase, Carbo-Anhydratase etc. (Graziani et al. 1982, 1983, Gschwendt et al. 1983).

Flavonoide sind wenig toxisch. Injektionen von 30 - 50 mg / kg KG erwiesen sich bei Ratte und Meerschweinchen als völlig unschädlich (Böhm 1967). Langzeitversuche von Jones und Hughes 1981 zeigten aber, daß Quercetin, ein Flavonoid, die Lebensdauer von Mäusen signifikant reduzieren kann. Versuche derselben Autoren mit einer Mischung verschiedener Flavonoide ergaben eine Verlängerung der Lebensdauer von Mäusen. Von anderen Autoren wurde in Versuchen festgestellt, daß eine Reihe von Flavonoiden, darunter Rutin und Quercetin, mutagen wirken (Bjidanés und Chang 1977). Neueste Untersuchungen ergaben, daß diese Flavonoide zwar mutagen, aber nicht karcinogen wirken (Morino und Matsukura 1981, Hosaka und Hirino 1981).

Über die therapeutische Verwendung von Flavonoiden bei experimentellem Tumorwachstum liegt eine Reihe von Erkenntnissen vor (Fritz-Niggli 1978). Eine ununterbrochene Verabreichung von Flavonoiden soll das Tumorwachstum um bis zu 50% hemmen. Bei Karzinomen im Hals- und Kopfbereich soll die Gabe eines Magnesium/Flavon-Komplexes in 50% der Fälle zu einem sehr guten Ergebnis geführt haben (Böhm 1967). Neuere Untersuchungen mit Quercetin brachten sehr gute Ergebnisse bezüglich der tumorprotektiven Eigenschaften dieses Flavonoids (Kato und Nakadate 1983, Nishino et al. 1984).

Das von uns benutzte Ausgangsprodukt HR besteht aus einem Gemisch von vier Flavonoiden, Mono-, Di-, Tri- und Tetra-Hydroxyäthylrutosid mit einem Hauptanteil (60-70%) von Tri-HR. Diese sehr gut wasserlösliche Verbindung wurde durch Acetylierung in eine fettlösliche Form gebracht, um nach oraler Aufnahme besser absorbiert zu werden.

Methodik

Die Untersuchungen wurden an 66 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Diese waren in 4 Gruppen zu je 15 Tieren und eine Gruppe mit 6 Tieren aufgeteilt. Die Tiere wurden zu dritt in Aluminiumkäfigen gehalten. Als Futter wurde Altromin gegeben. Das Gewicht der Ratten wurde wöchentlich bestimmt und festgehalten. Zudem wurde einmal wöchentlich jedes Tier auf Tumorbefall hin untersucht, und von vorhandenen Tumoren wurde der Durchmesser bestimmt. Zur Messung wurde eine Schublehre ohne Feststellmechanismus verwendet. So konnten durch Deformation entstehende Meßfehler vermieden werden. Mehrfache Kontrolluntersuchungen ergaben eine ausreichende Genauigkeit dieses Verfahrens.

Als karzinogene Substanz wurde 2-Aminofluoren - 2-AAF - ($C_8H_8CH_2C_4H_7NHC(=O)CH_3$), von der Firma Fluka AG, verfüttert. Einmal wöchentlich wurde eine Lösung von 900 mg 2-AAF in 300 ml Polyäthylenglykol angesetzt. Davon wurden jedem Tier der Gruppe eine bis drei täglich 3,0 mg 2-AAF / ml mittels einer Schlundsonde verabreicht.

Als Schutzsubstanz wurde Acetyl-Hydroxyäthylrutosid (Ac-HR), von der Firma Zyma, angewandt. Zu der 2-AAF/Polyäthylenglykol-Lösung wurde das Ac-HR je nach Versuchsplan hinzugegeben (s. Tab.1).

Tabelle 1: Gruppeneinteilung

Gruppe	n	Applizierte Substanzen pro Tier und Tag
Ia	15	3,0 mg 2-AAF, 1 ml Polyäthylenglykol. Bei Auftreten erster Symptome erhält das betroffene Tier zusätzlich 40,0 mg Ac-HR.
Ib	15	Bis Ende des 3. Monats: 3,0 mg 2-AAF, 1 ml Polyäthylenglykol. Ab dem 4. Monat zusätzlich 40,0 mg Ac-HR.
II	15	3,0 mg 2-AAF, 1 ml Polyäthylenglykol, 20 mg Ac-HR.
III	15	3,0 mg 2-AAF, 1 ml Polyäthylenglykol, 40 mg Ac-HR.
IV	6	--- --- 40 mg Ac-HR.

Auf eine Kontrollgruppe für 2-AAF wurde verzichtet, weil die Wirksamkeit schon in Vorversuchen erprobt worden war.

Die Tiere wurden täglich von Montag bis Freitag sondiert. An den Samstagen und Sonntagen war Pause. Das Versuchsjahr begann am 22.04.1981 und endete am 22.04.1982. 2-AAF wurde bei den Gruppen I bis III vom 22.04.81 bis zum 18.09.81, d.h. 21 Wochen lang, gegeben. Ac-HR wurde bis zum Ende des Versuchsjahres verabreicht.

Wenn sich wegen der Anzahl oder/und Größe der Tumoren ein erheblicher Vitalitätsverlust bei den Tieren zeigte, wurden sie getötet. Jedes Tier wurde dann seziert und auf Metastasen an Lunge, Leber und Milz hin untersucht. Die Tumoren wurden makroskopisch nach Form, Beschaffenheit und Lage differenziert. Histologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt, da die Histologie durch vorangegangene Arbeiten bereits abgesichert war.

Ergebnisse

Gruppe Ia

Die 15 Tiere dieser Gruppe erhielten von Anfang an nur 3 mg 2-AAF in 1 ml Polyäthylenglykol. Bei Auftreten erster Symptome bekam das jeweilige Tier zusätzlich 40,0 mg Ac-HR.

Schon nach 4 Wochen zeigte sich bei vielen Tieren eine gelbliche Verschmutzung des Fells. Das erste Tier erkrankte nach fast viermonatiger Sondierung am 14.8.81, das letzte nach zehnmonatiger Sondierung am 17.2.82 (vgl. Tab. 2).

Tabell. 2: Krankheitsverlauf und Tumorstadium *

Tier	Erkrankung am	Tod am	Dauer des Tumorstadiums (Tage)	Tumorstadium in Millimetern
1	14.08.81	28.10.81	75/22	17/11
2	31.08.81	18.11.81	79/78	19/18
3	08.09.81	18.11.81	71/14	25/13
4	11.09.81	22.09.81	18	27
5	28.10.81	18.11.81	21	12
6	18.11.81	17.12.81	36	22
7	18.11.81	04.12.81	16	17
8	25.11.81	20.01.82	56/28	25/16
9	25.11.81	06.01.82	42	26
10	25.11.81	17.12.81	20	15
11	02.12.81	28.01.82	55	14
12	-	07.12.81	-	-
13	09.12.81	28.01.82	36	20
14	11.02.82	03.03.82	27	19
15	17.02.82	03.03.82	14	14

Die zweiten Zahlen in den Spalten 3 und 4 beziehen sich auf das Wachstum eines zweiten Tumors am selben Tier.

* Die laufende Numerierung wurde bei jeder Tabelle nach chronologischen Gesichtspunkten gesondert vorgenommen.

GRUPPE Ia DURCHSCHNITTSGEWICHT ALLER TIERE

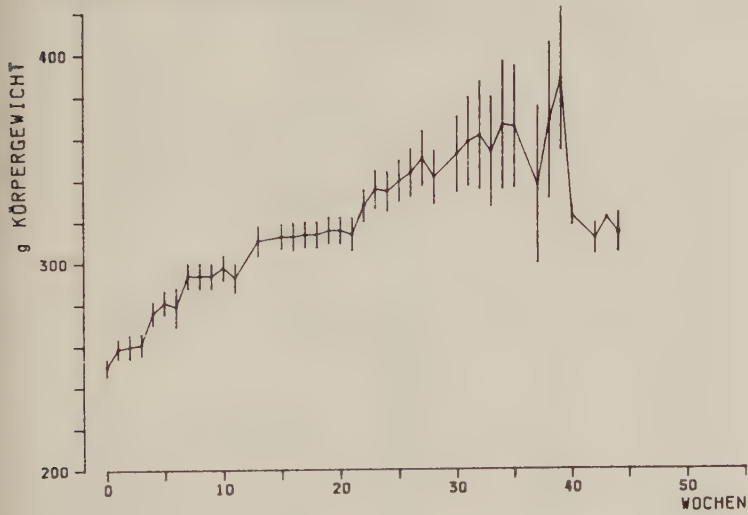


Abbildung 1: Gruppe Ia

Das Tier Nr. 12 nahm innerhalb von drei Tagen fast 100 g ab und starb am 7. 12. 81. Außerlich waren keine Tumoren feststellbar. Die Obduktion erbrachte mehrere größere Lungenkarzinome.

Die durchschnittliche Tumorstadiumsdauer betrug 39 Tage. Die dazugehörige Tumorzunahme lag bei 18,0 mm. Daraus ergab sich ein durchschnittliches Tumorstadium von 0,61 mm pro Tag.

Das Anfangsgewicht der Tiere betrug 250 g. Die 300-g-Grenze wurde nach der 12. Woche (am 22.7.81) erreicht. Nach der 36. Woche wurde ein Gewicht von 350 g erreicht (vgl. Abb. 1).

Bei Tumorerkennung betrug das gemittelte Gewicht der Tiere 337 g, beim Tod lag das Gewicht bei 336 g (vgl. Tab. 3).

Tabelle 3: Gewichtsentwicklung während des Tumorstadiums

Tier	Erkrankung am	Gewicht (g)	Tod am	Gewicht (g)	Differenz
1	14.08.81	304	28.08.81	307	+ 3
2	31.08.	330	18.11.81	353	+ 23
3	08.09.	315	18.11.81	312	- 3
4	11.09.	310	22.09.81	305	- 5
5	28.10.	287	18.11.81	287	0
6	18.11.	315	17.12.81	332	+ 17
7	18.11.	347	04.12.81	344	- 3
8	25.11.	484	20.01.82	480	- 4
9	25.11.	422	06.01.82	428	+ 6
10	25.11.	312	17.12.81	281	- 31
11	02.12.	351	27.01.82	354	+ 3
12	09.12.	303	18.01.82	295	- 8
13	03.02.82	319	03.03.82	306	- 13
14	17.02.	320	03.03.82	325	+ 5

Die Obduktionsbefunde erbrachten eine Erkrankung der Tiere an Gehörgangstumoren oder an Mammaadenokarzinomen.

Die Tiere Nr. 2 und 5 waren von beiden Arten befallen.

Metastasen an Lunge oder Leber wurden bei 5 Tieren gefunden.

(Vgl. Tab. 4.)

Tabelle 4: Obduktionsbefunde

Tier	Datum	Tumoren Anzahl, Art, Größe in mm	Metastasen
1	22.09.81	1 Mammatumor 30	---
2	28.10.81	1 Mammatumor 21	---
		1 Gehörgangstumor 16	---
3	18.11.81	1 Mammatumor 23	Lunge, Leber
		2 Mammatumoren 21	
4	18.11.81	1 Gehörgangstumor 15	Lunge, Leber
5	18.11.81	1 Mammatumor 28	---
		1 Gehörgangstumor 17	---
6	04.12.81	1 Gehörgangstumor 20	---
7	07.12.81	---	Lunge
8	17.12.81	1 Gehörgangstumor 18	---
9	17.12.81	1 Mammatumor 25	---
10	06.01.82	1 Mammatumor 30	Leber
11	18.01.82	1 Gehörgangstumor 23	---
12	20.01.82	1 Mammatumor 30	---
		1 Mammatumor 20	---
13	28.01.82	1 Mammatumor 18	Lunge
14	03.03.82	1 Gehörgangstumor 18	Lunge, Leber
15	03.03.82	1 Gehörgangstumor 22	---

Histogenese und Histologie der Tumoren

A. Milchdrüsentumoren

Die Entstehung von Mammatumoren bei weiblichen Ratten, nach Gabe von 2-AAF, wurde von Bielschowsky und Mitarbeitern 1946, Cox und Mitarbeitern 1947, Engel und Copeland 1948, 1951 und 1952 ausführlich untersucht.

Danach entspricht die Lage der Mammatumoren der Verteilung des Milchdrüsengewebes in den Milchleisten (Abb.1).



Es gibt 5 Paare von Milchdrüsen, die symmetrisch angeordnet sind. An jeder beliebigen Stelle dieser Milchdrüsen können die Tumoren entstehen. Die kleinen Tumoren sind feste, frei bewegliche subkutane Geschwülste. Sie sind nicht mit Haut und Gewebe verwachsen, sondern haben eine undeutlich abgegrenzte Kapsel und können aus dem umgebenden Gewebe herausgeschält werden. Die großen Tumoren sind oft mit Cysten und hämorrhagischen Bereichen durchsetzt (Dunn 1945). Histologisch lassen sich die meisten Tumoren in drei Gruppen nach Andervont und Dunn (1950) einteilen:

1) Adenokarzinome:

Aufgebaut aus glandulären bzw. tubulären Strukturen mit kuboiden Epithelzellen.

2) Plattenepithelkarzinome:

Epidermoider Aufbau mit Proliferation von Epithelzellen, dadurch Strukturen, die aussehen wie Plattenepithelkarzinome.

3) Fibroadenome:

Primäre Wucherung des Milchgangepithels mit starker Entwicklung des Bindegewebes um die Drüsenwucherungen herum.

B. Gehörgangstumoren

Untersuchungen von Skoryna und Webster (1951) haben ergeben, daß diese Tumoren von Drüsen ausgehen, die nur bei Insektenfressern und Nagern vorkommen. Die ca. 3 - 5 mm große Drüse befindet sich bei der Ratte am medialen Ende des äußeren Gehörganges nahe dem Trommelfell. Die epidermale Auskleidung des Gehörganges kann ebenfalls als Ausgangsort des Tumors (verhorntes Plattenepithelkarzinom) angesehen werden. Der entstehende Tumor macht sich bemerkbar durch subkutane Beulen in der Nähe des Gehörganges. Die anfangs noch frei über dem Tumor beweglichen Hautpartien ulcerieren im fortgeschrittenen Stadium häufig. Die Tumoren sind 0,5 - 5,0 cm groß. Das Tumorgewebe ist von einer derben Bindegewebskapsel umgeben.

Die Histologie zeigt die Entstehung der Tumoren in den Epithelien cystischer Lobi. Die Tumorzellen sind in der Regel oval oder polyedrisch. Die Masse der Tumoren besteht aus talgigen Zellen mit runden oder ovalen Zellkernen. Sie haben meist einen einzelnen, deutlich ausgebildeten Nucleolus, der Kontakt mit der Kernmembran zu haben scheint. Die kleinen Tumoren wachsen überwiegend zentripetal und zeigen somit kein infiltratives Wachstum. Im Verlauf der Genese breiten sie sich aber verstärkt peripher aus und brechen in Knochen, Muskulatur und auch in das Gehirn ein.

Gruppe Ib

Die 15 Tiere dieser Gruppe erhielten bis zum Ende des dritten Monats 3 mg 2-AAF in 1 ml Polyäthylenglykol gelöst. Ab dem vierten Monat (22.7.81) erhielt jedes Tier zusätzlich 40 mg Ac-HR.

Nach Ablauf eines Monats zeigten auch diese Tiere gelbliche Verschmutzungen.

Das erste Tier erkrankte nach fast viereinhalbmonatiger Sondierung am 8.9.81, das letzte nach fast einjähriger Versuchsdauer am 15.4.82. Die letzte 2-AAF-Gabe lag bei diesem Tier sieben Monate zurück.

(Vgl. Tab.5.)

Tabelle 5: Krankheitsverlauf und Tumorwachstum

Tier	Erkrankung am	Tod am	Dauer des Tumorwachstums (Tage)	Tumorwachstum in Millimetern
1	08.09.81	04.11.81	78/28	8/16
2	22.09.	18.11.81	64	37
3	29.09.	06.01.82	99	42
4	06.10.	20.01.82	78/106	8/10
5	06.10.	17.12.81	79	21
6	06.10.	02.12.81	57	28
7	14.10.	03.30.82	140	27
8	28.10.	04.12.81	37/16	20/17
9	28.10.	20.01.82	77	15
10	02.12.	06.01.82	42/20	27/9
11	02.12.	21.12.81	19	7
12	09.12.	17.12.81	15	15
13	09.12.	28.01.82	50/22	10/9
14	30.12.	20.01.82	21	15
15	15.04.82	22.04.82	7	4

Die zweiten Zahlen in den Spalten 3 und 4 beziehen sich auf das Wachstum eines zweiten Tumors am selben Tier.

Die durchschnittliche Dauer des Tumorwachstums betrug 54 Tage, die Zunahme des Tumors während dieser Zeit 17,0 mm. Daraus ergibt sich ein durchschnittliches Wachstum von 0,43 mm pro Tag. Das heißt, das Wachstum verlief ungefähr um ein Drittel langsamer als bei Gruppe Ia.

Das Anfangsgewicht der Tiere lag bei 251 g. Die 300-Gramm-Grenze wurde nach 7 Wochen am 15.6.81 erreicht. Nach der 36. Woche betrug das Durchschnittsgewicht 335 g. (Vgl. Abb. 2.)

Das Durchschnittsgewicht der Tiere bei Tumorerkennung lag bei 334 g. Beim Tod der Tiere betrug das Gewicht ebenfalls 334 g. (Vgl. Tab. 6.)

GRUPPE Ib DURCHSCHNITTSGEWICHT ALLER TIERE

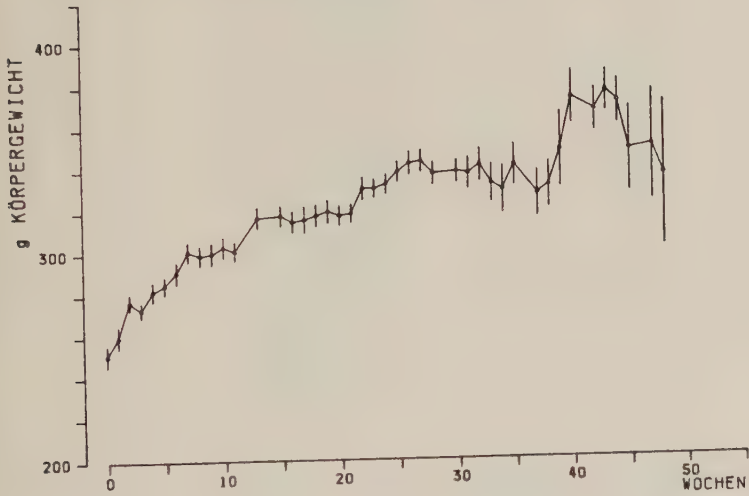


Abbildung 2: Gruppe Ib

Tabelle 6: Gewichtsentwicklung während des Tumorwachstums

Tier	Erkrankung am	Gewicht (g)	Tod am	Gewicht (g)	Differenz
1	10.09.81	345	02.12.81	356	+ 11
2	24.09.	345	11.11.81	371	+ 25
3	30.09.	310	16.12.81	310	---
4	06.10.	350	07.04.82	327	- 23
5	07.10.	329	16.12.81	347	+ 18
6	07.10.	326	02.12.81	346	+ 20
7	13.10.	316	03.03.82	376	+ 60
8	28.10.	337	02.12.81	281	- 56
9	28.10.	325	13.01.82	315	- 10
10	02.12.	380	30.12.81	382	+ 2
11	02.12.	357	16.12.81	354	- 3
12	09.12.	341	17.12.81	308	- 2
13	09.12.	341	27.01.82	298	- 43
14	30.12.	311	20.01.82	310	- 1
15	15.04.82	385	22.04.82	385	---

Die Obduktionsbefunde entsprechen den Befunden der Gruppe Ia, es zeigten sich Mammaadenokarzinome und Gehörgangstumoren.

Die Tiere Nr. 9, 12 und 13 entwickelten beide Arten von Tumoren. Metastasen hatten 9 Tiere, möglicherweise ist dies auf die längere Krankheitsdauer zurückzuführen.

(Vgl. Tab. 7.)

Tabelle 7: Obduktionsbefunde

Tier	Datum	Tumoren		Metastasen
		Anzahl, Art, Größe in mm		
1	18.11.81	1 Mammatumor	40	---
2	02.12.	1 Mammatumor	32	Lunge
3	04.12.	1 Gehörgangstumor	22	Lunge
		1 Gehörgangstumor	20	
4	04.12.	1 Gehörgangstumor	11	---
		1 Gehörgangstumor	18	
5	17.12.	1 Mammatumor	24	---
6	17.12.	1 Gehörgangstumor	18	Lunge, Leber
7	21.12.	1 Mammatumor	12	---
8	06.01.82	1 Mammatumor	45	Lunge
9	06.01	1 Mammatumor	30	Leber
		1 Gehörgangstumor	12	
10	20.01.	1 Mammatumor	16	Lunge
		1 Mammatumor	20	
11	20.01.	1 Gehörgangstumor	19	Lunge
12	28.01.	1 Gehörgangstumor	12	---
		1 Mammatumor	13	
13	03.03.	1 Gehörgangstumor	22	Lunge, Leber
		1 Mammatumor	11	
14	22.04.	1 Mammatumor	6	Leber
15	22.04.	1 Mammatumor	12	---

Gruppe II

Die Tiere dieser Gruppe erhielten von Anfang an 3 mg 2-AAF und 20 mg Ac-HR in Polyäthylenglykol gelöst.

Auch in dieser Gruppe zeigten die Tiere nach Ablauf eines Monats gelbliche Verschmutzungen.

Das erste Tier erkrankte nach dreimonatiger Sondierung am 27.7.81, das letzte nach neunmonatiger Versuchsdauer am 28.1.82.

Ein Tier überlebte, ohne an einem Tumor zu erkranken.

(Vgl. Tab. 8.)

Tabelle 8: Krankheitsverlauf und Tumorwachstum

Tier	Erkrankung am	Tod am	Dauer des Tumorwachstums (Tage)	Tumorwachstum in Millimetern
1	27.07.81	11.09.81	53	32
2	04.08.	28.10.81	92/57	19/17
3	25.08.	26.09.81	32/39	3/38
4	25.08.	18.11.81	92	25
5	22.09.	28.10.81	36	15
6	06.10.	28.10.81	29	24
7	06.10.	28.10.81	22	20
8	21.10.	18.11.81	28	20
9	28.10.	20.01.82	91/77	23/12
10	28.11.	07.04.82	147/49	7/38
11	28.11.	20.01.82	63/63/56	14/18/17
12	02.12.	06.01.82	42/35	12/32
13	30.12.	17.03.82	77/28/28	15/19/7
14	28.01.82	07.04.82	76	29
15	---	---	---	---

Die zweiten und dritten Zahlen in den Spalten 3 und 4 beziehen sich auf das Wachstum eines zweiten und dritten Tumors am selben Tier.

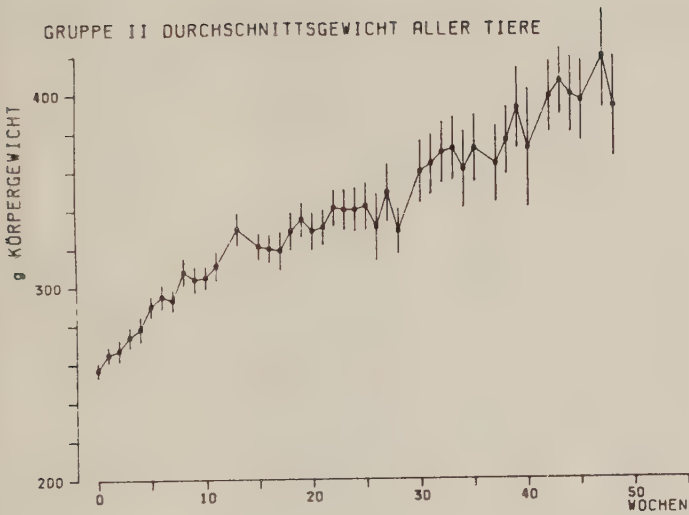


Abbildung 3: Gruppe II

Die durchschnittliche Dauer des Tumorstwachstums lag bei 57 Tagen. Die Größenzunahme der Tumoren in dieser Zeit betrug 20 mm. Als durchschnittliches Wachstum ergibt sich somit ein Wert von 0,44 mm pro Tag. Dies entspricht in etwa dem Wert von Gruppe Ib.

Das gemittelte Anfangsgewicht der Tiere betrug 257 g. Die 300-Gramm-Grenze wurde bereits in der achten Woche, am 24.6.81, erreicht. Nach der 36. Woche ergab sich ein Durchschnittsgewicht von 370 g.

(Vgl. Abb. 3.)

Bei Tumorerkennung hatten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 337 g. Bis zum Tod konnten sie trotz Erkrankung ihr Gewicht auf 344 g erhöhen.

(Vgl. Tab. 9.)

Tabelle 9: Gewichtsentwicklung während des Tumorstwachstums

Tier	Erkrankung am	Gewicht (g)	Tod am	Gewicht (g)	Differenz
1	27.07.81	350	10.09.81	380	+ 30
2	12.08.	340	28.10.81	398	+ 58
3	19.08.	305	11.11.81	302	- 3
4	27.08.	300	24.09.81	350	+ 50
5	24.09.	345	28.10.81	225	-120
6	07.10.	353	28.10.81	344	- 9
7	07.10.	354	28.10.81	324	- 30
8	21.10.	290	11.11.81	270	- 20
9	28.10.	326	20.01.82	350	+ 24
10	11.11.	336	22.03.82	361	+ 25
11	11.11.	316	20.01.82	342	+ 26
12	02.12.	348	30.12.81	380	+ 32
13	30.12.	353	10.03.82	370	+ 17
14	27.01.82	402	31.03.82	420	+ 18
15	---	---	---	---	---

Die Obduktionsbefunde ergaben Erkrankungen an Mammaadenokarzinomen oder Gehörgangstumoren. Sechs Tiere dieser Gruppe waren an mehreren Tumoren erkrankt, 10 Tiere zeigten zum Teil sehr große Metastasen an Lunge und Leber. (Vgl. Tab.10.)

Tabelle 10: Obduktionsbefunde

Tier	Datum	Tumoren		Metastasen
		Anzahl, Art,	Größe in mm	
1	11.09.81	1 Mammatumor	35	Lunge
2	26.09.	1 Mammatumor	6	Lunge
		1 Mammatumor	41	
3	28.10.	1 Gehörgangstumor	20	Lunge
4	28.10.	1 Gehörgangstumor	23	Lunge
5	28.10.	1 Mammatumor	22	---
		1 Mammatumor	20	
6	28.10.	1 Gehörgangstumor	27	---
7	18.11.	1 Gehörgangstumor	23	Lunge
8	18.11.	1 Mammatumor	28	---
9	06.01.82	1 Mammatumor	35	Leber
10	20.01.	1 Mammatumor	19	Leber, Lunge
		1 Mammatumor	21	
		1 Gehörgangstumor	20	
11	20.01.	1 Mammatumor	26	---
		1 Mammatumor	9	
12	17.03.	1 Gehörgangstumor	18	Leber, Lunge
		1 Mammatumor	20	
		1 Mammatumor	8	
13	07.04.	1 Gehörgangstumor	32	Leber
14	07.04.	1 Mammatumor	10	Leber
		1 Mammatumor	42	
15	---	---	--	---

Gruppe III

Die 15 Tiere dieser Gruppe bekamen von Anfang an 3 mg 2-AAF und 40 mg Ac-HR gelöst in Polyäthylenglykol.

Die gelbliche Verschmutzung nach Ablauf des ersten Monats zeigte sich auch bei dieser Gruppe.

Das erste Tier starb nach fünfmonatiger Sondierung am 23.9.81, ohne ein Zeichen von Erkrankung. Der erste Tumor zeigte sich am 8.10.81, drei Wochen nach Ende der Gabe von 2-AAF. Das letzte, an Tumor erkrankte Tier starb nach zwölfmonatiger Versuchsdauer am 3.3.82. Vier Tiere überlebten das Versuchsjahr bei bester Gesundheit. Ohne Tumor starben während der Versuchsdauer vier Tiere. (Vgl. Tab. 11.)

Tabelle 11: Krankheitsverlauf und Tumorwachstum

Tier	Erkrankung am	Tod am	Dauer des Tumorwachstums (Tage)	Tumorwachstum in Millimetern
1	---	23.09.81	--	--
2	---	25.09.81	--	--
3	08.10.81	18.11.81	48	29
4	08.10.	18.11.81	48	27
5	21.10.	18.11.81	35	29
6	21.10.	17.12.81	57	24
7	29.10.	06.01.82	70	7
8	---	08.11.81	--	--
9	25.11.	28.01.82	64	9
10	17.12.	03.03.82	76/14/14	18/9/5
11	---	19.12.81	--	--

Die zweiten und dritten Zahlen in den Spalten 3 und 4 beziehen sich auf das Wachstum eines zweiten und dritten Tumors am selben Tier.

GRUPPE III DURCHSCHNITTSGEWICHT ALLER TIERE

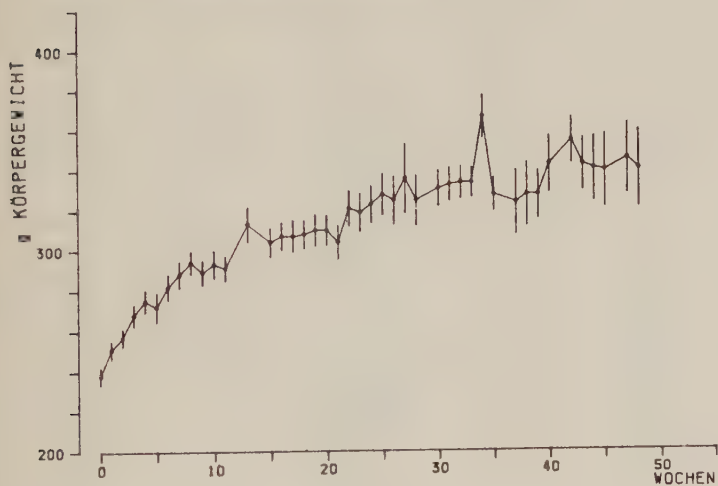


Abbildung 4: Gruppe III

Die Dauer des Tumorstwachstums lag im Durchschnitt bei 47 Tagen. Die Größenzunahme der Tumoren betrug in diesem Zeitraum 17,5 mm. Als durchschnittliches Wachstum ergibt sich somit ein Wert von 0,43 mm pro Tag.

Das gemittelte Ausgangsgewicht der Tiere lag bei 238 g. Die 300-Gramm-Grenze wurde nach dreimonatiger Sondierung am 22.7.81 erreicht. Das Durchschnittsgewicht nach der 36. Woche betrug 326 g.

(Vgl. Abb. 4.)

Bei Tumorerkennung hatten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 327 g. Trotz Erkrankung erhöhte sich ihr Gewicht um 10 g auf 337 g. (Vgl. Tab. 12.)

Tabelle 12: Gewichtsentwicklung während des Tumorstwachstums

Tier	Erkrankung am	Gewicht (g)	Tod am	Gewicht (g)	Differenz
1	---	---	23.09.81	---	---
2	---	---	23.09.81	---	---
3	07.10.81	261	11.11.81	298	+ 37
4	07.10.	376	11.12.81	408	+ 32
5	21.10.	353	11.12.81	355	+ 2
6	21.10.	323	09.12.81	348	+ 25
7	28.10.	345	30.12.81	340	- 5
8	---	---	08.11.81	---	---
9	25.11.	296	20.01.82	278	- 18
10	17.12.	336	24.02.82	335	- 1
11	---	---	19.12.81	---	---

Die Obduktionsbefunde zeigten die Erkrankungen von zwei Tieren an mehreren Tumoren.

Bei vier Tieren wurden relativ große Metastasen in Lunge und Leber gefunden. Die vier ohne Tumor gestorbenen Tiere zeigten bei der Obduktion keinerlei pathologische Veränderungen. An den vier überlebenden Tieren konnten ebenfalls keine Veränderungen festgestellt werden. (Vgl. Tab.13.)

Tabelle 13: Obduktionsbefunde

Tier	Datum	Tumoren		Metastasen
		Anzahl, Art, Größe in mm		
1	23.09.81	kein Tumor		---
2	25.09.81	kein Tumor		---
3	18.11.81	1 Mammatumor	30	Lunge, Leber
4	18.11.81	1 Mammatumor	32	---
5	18.11.81	1 Mammatumor	30	---
6	17.12.81	1 Mammatumor	27	---
7	06.01.82	1 Gehörgangstumor	10	---
8	08.11.81	kein Tumor		---
9	28.01.82	1 Gehörgangstumor	13	Lunge
10	03.03.82	1 Gehörgangstumor	22	Lunge, Leber
		1 Mammatumor	12	
		1 Mammatumor	8	
11	19.12.81	kein Tumor		---

Gruppe IV

An den sechs Tieren dieser Gruppe sollte die Wirkung von Ac-HR ohne Gabe eines Karcinogens erprobt werden.

Die Tiere bekamen täglich 40 mg Ac-HR, gelöst in 1 ml Polyäthylenglykol.

Die gelblichen Verschmutzungen waren bei keinem dieser Tiere festzustellen.

Am 30.7.81, nach dreimonatiger Gabe von Ac-HR, starb das erste Tier, obwohl seine Gewichtsentwicklung sehr gut war. Zwei weitere Tiere starben im Lauf des Versuchsjahres. Drei Tiere überlebten das Versuchsjahr ohne jegliche Krankheitserscheinung. (Vgl. Tab.14.)

Tabelle 14: Krankheitsverlauf

Tier	Erkrankung	Tod
1	---	30.07.81
2	---	---
3	---	---
4	---	10.12.81
5	---	24.02.81
6	---	---

Das Anfangsgewicht betrug 220 g.

Die 300-Gramm-Grenze wurde nach drei Monaten am 11.7.81 erreicht.

Nach der 36. Woche hatten die Tiere ein Durchschnittsgewicht von 385 g. (Vgl. Abb.5.)

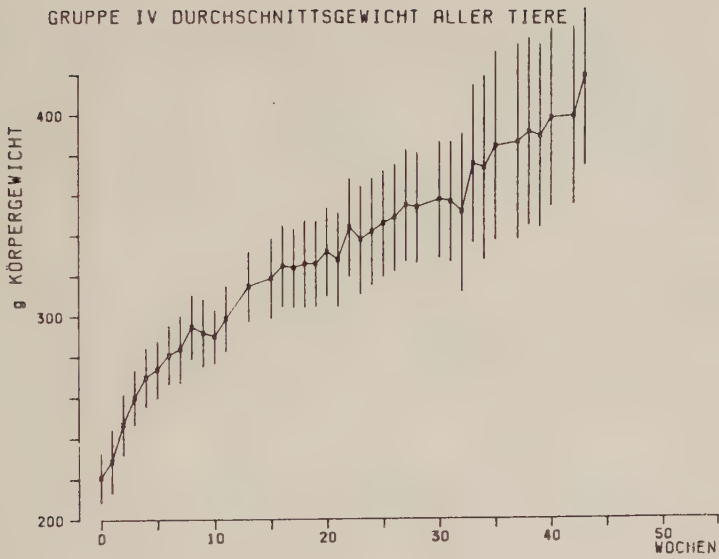


Abbildung 5: Gruppe IV

Die drei überlebenden Tiere zeigten eine sehr gute Gewichtsentwicklung.
(Vgl. Tab.15.)

Tabelle 15: Gewichtsentwicklung der überlebenden Tiere

Tier	Versuchsbeginn	Gewicht (g)	Versuchsende	Gewicht (g)	Differenz
1	22.04.81	210	03.03.82	360	+ 150
2	22.04.81	280	03.03.82	532	+ 252
3	22.04.81	210	03.03.82	405	+ 195

Obduktionsbefunde

Die Obduktionsbefunde aller Tiere dieser Gruppe zeigten keinerlei pathologische Veränderungen.

Vergleich der Ergebnisse

1) Krankheitsverlauf

Wie aus den Tabellen ersichtlich, erkrankten die Tiere der Gruppe II als erste, obwohl sie von Anfang an 20 mg Ac-HR bekommen hatten. Die Tiere der Gruppe Ia erkrankten im Schnitt zwei bis drei Wochen später trotz alleiniger Gabe von 2-AAF. Gruppe Ib erkrankte im Schnitt fünf bis sechs Wochen später als Gruppe II. Die Tiere der Gruppe Ib hatten (ab dem vierten Monat) bis zum Erkrankungszeitpunkt bereits sechs Wochen lang 40 mg die Schutzsubstanz Ac-HR bekommen. Sehr deutlich zeigte sich die Wirkung von Ac-HR bei der Gruppe III. Der Erkrankungsbeginn dieser Gruppe war im Schnitt um acht Wochen gegenüber der Gruppe II verzögert. An Tumoren erkrankten alle Tiere der Gruppen Ia und Ib. In Gruppe II überlebte ein Tier ohne Anzeichen eines Tumors. Die Gruppe III zeigte ein sehr gutes Ergebnis mit nur 7 Tumorerkrankungen. (Vgl. Abb. 6.)

Beim Vergleich des Letalitätsverlaufs zeigte sich ein ähnliches Bild wie in Abbildung 6. Das beste Ergebnis fand sich bei Gruppe III. Gruppe Ib (40 mg Ac-HR nach dem dritten Monat) zeigte einen deutlich besseren Letalitätsverlauf als Gruppe Ia und konnte sogar das Ergebnis von Gruppe II übertreffen. (Vgl. Abb. 7.)

2) Tumorwachstum

Wie ein Vergleich der Ergebnisse zeigt, hatten die Tiere der Gruppe Ia das schnellste Tumorwachstum. Eine Tumorzunahme von 18 mm wurde schon nach 39 Tagen erreicht. Bei deutlich verzögertem Wachstum erreichte die Gruppe Ib erst nach 54 Tagen eine Tumorzunahme von 17 mm. Die Tumorzunahme und das durchschnittliche Wachstum pro Tag lagen in Gruppe III fast bei den Werten von Gruppe Ib. (Vgl. Tab. 16.)

Tabelle 16: Tumorwachstum

Gruppe	Wachstumsdauer	Zunahme in mm	Durchschnittswachstum pro Tag in mm
Ia	40 Tage	17,8	0,62
Ib	54 Tage	17,0	0,43
II	57 Tage	19,8	0,44
III	47 Tage	17,4	0,43

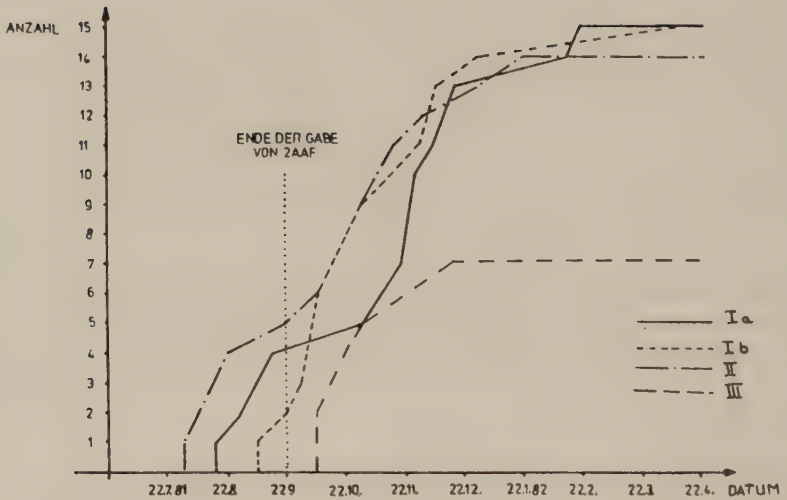


Abbildung 6: Krankheitsverlauf der Gruppen

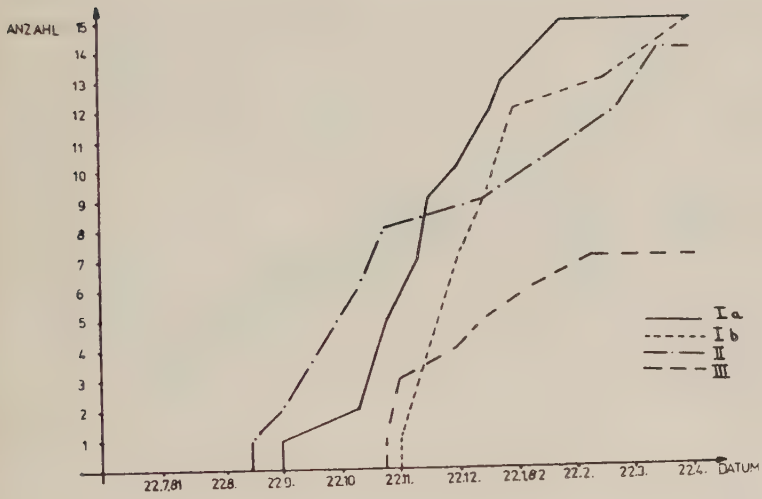


Abbildung 7: Letalitätsverlauf der Gruppen

3) Gewichtsentwicklung insgesamt

Die 300- Gramm-Grenze wurde am schnellsten von den Tieren der Gruppe Ib (7. Woche) und Gruppe II (8. Woche) erreicht. Die Gruppen Ia und III benötigten dazu 12 Wochen. Die Gewichtsunterschiede nach der 36. Woche waren in Anbetracht der unterschiedlichen Anfangsgewichte gering. Die beste Gewichtsentwicklung zeigten die Tiere der Gruppe IV. (Vgl. Abb. 8.)

4) Gewichtsentwicklung der am längsten überlebenden Tiere

Die Gruppe II zeigte hier das beste Ergebnis mit 375 g nach der 36. Woche. Der Wert für die Gruppe Ia lag bei 315 g, dem schlechtesten Ergebnis bei diesem Vergleich. Die Gruppe III lag mit 330 g Durchschnittsgewicht nach der 36. Woche lediglich um 15 g über dem Wert von Gruppe Ia. (Vgl. Abb. 9.)

5) Gewichtsveränderung während des Tumorwachstums

Wie sich aus Abbildung 10 erkennen läßt, konnten die Gruppen Ia und Ib während der Krankheitsdauer ihr Gewicht nicht steigern. Die Tiere der Gruppe II konnten trotz Tumorwachstums ihr Durchschnittsgewicht um 7 g erhöhen. Das gemittelte Gewicht der Gruppe III erhöhte sich während der Krankheit sogar um 10,5 g.

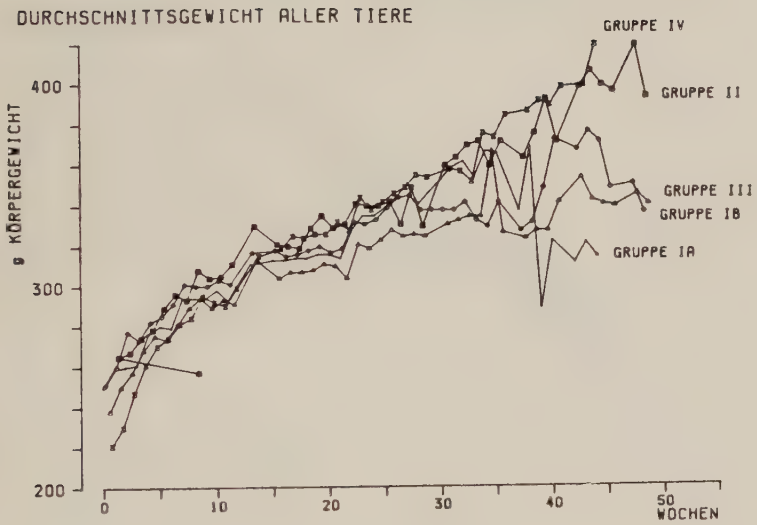


Abbildung 8

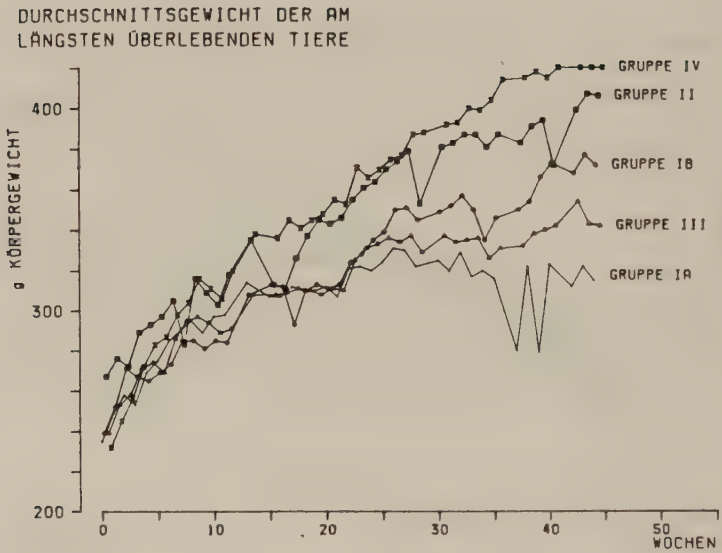


Abbildung 9

GEWICHTSVERÄNDERUNG WÄHREND DES TUMORWACHSTUMS

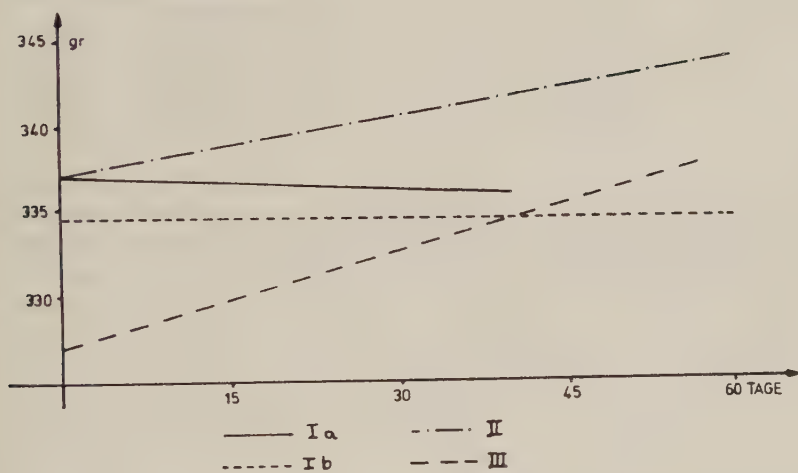


Abbildung 10

6) Obduktionsbefunde

Tabelle 17: Häufigkeit der Tumorarten in den einzelnen Gruppen

Gruppe	Zahl der Tiere	Zahl der Tumoren insgesamt	Tumorart	Metastasen
Ia	14	19	11 Mammatumoren 8 Gehörgangstumoren	5
Ib	15	21	12 Mammatumoren 9 Gehörgangstumoren	9
II	14	22	15 Mammatumoren 7 Gehörgangstumoren	10
III	7	9	6 Mammatumoren 3 Gehörgangstumoren	3

Das einzige auffällige Ergebnis beim Vergleich der Obduktionsbefunde war die hohe Anzahl an Metastasen bei den Tieren der Gruppe Ib und II. Wahrscheinlich ist dies zurückzuführen auf die lange Krankheitsdauer der Tiere dieser beiden Gruppen.

Diskussion

Eine Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse läßt den Schluß zu, daß Ac-HR auch bei hoher Dosierung (40 mg / Tag) keinen kurativen Effekt zeigt. (Vgl. Gruppe Ia mit Gruppe II bzw. III.)

Die Wirkung von Ac-HR scheint hauptsächlich protektiven Charakter zu haben, was aus dem Vergleich der Gruppen Ib und III hervorgeht. Eine möglichst hohe Dosis Ac-HR von Beginn des Versuchs an sichert eine gute Schutzwirkung. Das relativ gute Ergebnis der Gruppe Ib im Vergleich zu Gruppe II erklärt sich möglicherweise aus der zwar verzögerten, aber dafür um so höheren Gabe von Ac-HR. Vor einer weiteren Diskussion der vorliegenden Versuchsergebnisse erscheint es noch notwendig, die experimentelle Arbeit von Lohrke, Hesse und Goerttler (1982) über die Entstehung von Spontantumoren bei Sprague-Dawley-Ratten anzuführen.

Als Ergebnis dieser Arbeit zeigte sich, daß eine hohe Tumorzinzidenz charakteristisch ist für Sprague-Dawley-Ratten. Die weiblichen Tiere erkrankten in 85 % aller Fälle an einem oder mehreren Spontantumoren. Bezogen auf unseren Versuch wäre von Bedeutung, daß immerhin 73 % aller Tiere einen Mammatumor aufwiesen. Die Versuchsdauer lag im Durchschnitt bei 909 Tagen, was der durchschnittlichen Lebenserwartung eines weiblichen Tieres entspricht. Die Mortalitätsrate nach dem ersten Jahr lag bei 2%. Man kann auf Grund dieser Ergebnisse wohl annehmen, daß Sprague-Dawley-Ratten eine genetische Disposition für Tumoren haben. Somit erklären sich möglicherweise auch die überaus schnelle und zuverlässige Wirkung und die stammesspezifische Organotropie von 2-AAF bei diesen Versuchstieren.

Auf Grund der genetischen Disposition von Sprague-Dawley-Ratten liegen bei diesen Tieren wahrscheinlich genügend prädisponierte Zellen vor, an denen 2-AAF angreifen kann. Damit kommt 2-AAF vielleicht mehr die Funktion eines Tumor-Promotors als die eines Tumor-Initiators zu (Schmahl 1981).

Demnach würde das von uns verwendete Ac-HR die Rolle eines Anti-Tumorpromotors spielen. Das heißt, Ac-HR hat eine hemmende Wirkung auf 2-AAF. Mögliche Mechanismen wären z.B. kompetitive Hemmung oder metabolische Protektierung. Beide Möglichkeiten decken sich mit den vorliegenden Erkenntnissen über die Wirkungen von Quercetin, einem strukturell verwandten Flavonoid (Kato und Nakadate 1983, Nishino und Iwashima 1984, Nishino et al. 1984).

Im Gegensatz zu den angedeuteten protektiven Möglichkeiten steht die kurative antineoplastische Chemotherapie. Bei dieser wird versucht, durch die Kombination verschiedener Stoffe cytostatische bzw. cytotoxische Effekte auf die Tumorzellen auszuüben. Das gelingt vorwiegend durch Gabe phasenspezifischer, d.h. in einer speziellen Phase der Zellteilung wirkender, und nicht-phasenspezifischer Substanzen. Solche Stoffe lassen sich nach ihren Wirkungsmechanismen in gewisse Gruppen, wie z.B. alkylierende Substanzen, Antimetaboliten usw., einteilen. Sie hemmen entweder direkt die DNS-Synthese oder die Synthese von Nukleinsäure-Vorstufen. Sie können aber auch zum Einbau falscher Nukleotide in die DNS, Zerstörung der Mitosespindeln oder zur Blockierung der RNS führen. Die Chemotherapie als kurative Therapieform hat aber entscheidende Nachteile. Sie führt auch zur Vernichtung normaler proliferierender Zellen und zu dadurch bedingten Nebenwirkungen, wie Schädigung des Knochenmarks und Störung des Immunsystems. Durch die Beeinträchtigung des körpereigenen Abwehrsystems können große Infektionsprobleme auftreten. Ferner wären das häufige Verbleiben resistenter Tumorzellen und die damit verbundene Gefahr von Rezidiven anzuführen. Ebenso sind ruhende oder sehr langsam wachsende Tumoren mit geringer Wachstumsfraktion sehr schwer zu therapieren. Zuletzt wäre noch die stark mutagene und teratogene Wirkung von Cytostatika zu erwähnen (Stader und Lutz 1984).

Der am stärksten limitierende Faktor bei der Chemotherapie ist aber die Störung des Immunsystems. Schon 1964 wurde von Kallenbach eine Minderung der natürlichen immunologischen Krebsabwehr durch lang andauernde Gabe von Cytostatika beobachtet. Spreafico und Mantovani (1981) zeigen in ihrer sehr ausführlichen Arbeit die Problematik der Immunmodulation durch Chemotherapeutika auf. Ihre Untersuchungen ergaben, daß chemisch nahe verwandte Cytostatika sehr unterschiedliche Wirkungen auf das Immunsystem haben können. Diese können so weit gehen, daß sie zum limitierenden Faktor für die gesamte Therapie werden. Die Autoren stellten aber auch fest, daß ein Großteil der Wirkung gewisser Chemotherapeutika auf einem Synergismus mit den körpereigenen Abwehrkräften beruht. Diese können durch die Gabe spezieller Cytostatika stimuliert werden.

Die Autoren plädieren für eine Kombinationstherapie aus Immunverstärkung und unterstützender Chemotherapie. Sie befürworten die verstärkte Suche nach Stoffen, die das Immunsystem stärken und somit als Tumorphylaxe wirken. Cytostatika, auch in niedrigerer Dosis verabreicht, dürften für eine derartige vorbeugende Langzeittherapie aus den bereits angeführten Gründen keine Bedeutung erlangen. Alternativ dazu stehen Stoffe, wie z.B. die Flavonoide, die durchaus prophylaktische Möglichkeiten zeigen. Ein Vertreter dieser Stoffgruppe, der auf seine anticancerogene

Wirkung bereits sehr gut untersucht worden ist, ist das Quercetin. Quercetin, ein Flavonoid, das mutagene Eigenschaften aufweist (Nagaho und Morita 1981), aber nicht als Karcinogen wirkt, zeigte in einer Reihe von Versuchen eine sehr gute tumorprotektive Wirkung (Hirono und Ueno 1981, Marino und Masukura 1981). Versuche von Kato und Nakadate (1983) sowie von Nishino und Iwashima (1984) ergaben, daß Quercetin die Wirkung von 12-O-Tetradekanoylphorbol-13-acetat, einem äußerst wirksamen Tumorpromotor, um über 50 % reduzierte.

Die Wirkung von Teleocidin, einem ebenfalls sehr wirksamen Karcinogen, konnte in vivo bis zu 83 % gehemmt werden. Quercetin dürfte wegen seiner mutagenen Wirkung für eine prophylaktische Langzeittherapie nicht besonders geeignet sein. Eine Reihe anderer Flavonoide, die weder mutagen noch karcinogen wirken, wie z.B. das Luteolin, zeigen ebenfalls stark hemmende Wirkung auf Tumorpromotoren. Die Entwicklung stabiler, nicht-toxischer synthetischer Flavonoide, mit noch besseren präventiven Eigenschaften, zeigt möglicherweise einen Weg, der von der bislang üblichen, mit vielen Nachteilen behafteten Chemotherapie zur Chemoprävention maligner Tumoren führt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Aufgabe dieser experimentellen Arbeit war, nachzuprüfen, ob und in welcher Intensität Ac-HR einen protektiven Effekt gegenüber dem Karzinogen 2-AAF zeigte.

HR gehört zur Gruppe der Bioflavonoide und wird hauptsächlich als ödemprotektives Mittel verwandt. Durch die Acetylierung wird die Substanz besser fettlöslich, kann somit leichter in das Zellinnere eindringen und eventuell auch dort ihre Wirkung entfalten.

2-AAF ist ein systemisch wirkendes Cancerogen mit einem breiten Wirkungsspektrum. Es wird seit über vierzig Jahren in der experimentellen Pharmakologie angewandt.

Die Untersuchungen wurden an vier Gruppen zu je 15 Tieren und einer Kontrollgruppe von 6 Tieren durchgeführt. Die vier Versuchsgruppen erhielten 21 Wochen lang 3 mg 2-AAF pro Tier und Tag. Die Schutzsubstanz Ac-HR wurde in unterschiedlicher Dosis und über eine verschieden lange Zeitdauer verabreicht. Dabei sollte sowohl die kurative als auch die protektive Wirkung von Ac-HR untersucht werden.

Die Tumoren, die sich unter der Wirkung von 2-AAF entwickelten, waren Milchdrüsen- und Gehörgangstumoren. Sie wurden aufgrund vorangegangener Untersuchungen histologisch als Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome bzw. Fibroadenome klassifiziert. Als Ergebnis konnte festgestellt werden, daß Ac-HR keinen kurativen Effekt zeigt, sondern nur protektiv wirkt. Die protektive Wirkung ist am größten, wenn Ac-HR von Beginn des Versuchs an in möglichst hoher Dosis, d.h. 40 mg pro Tier und Tag, appliziert wird. Durch eine derartig hohe Dosierung konnte das Tumorstadium gehemmt werden, bei einigen Tieren wurde sogar die Tumorentstehung verhindert. Der Wirkungsmechanismus von Ac-HR dürfte auf einer metabolischen Protektierung bzw. einer kompetitiven Hemmung durch Enzyme beruhen.

LITERATUR

Andervont, H. B., T. B. Dunn:
J. Nat. Cancer Inst. 14, 317 (1953)
zit. bei Bielka

Bielka, H., D. Bierwolf, A. Graffi, T. Schramm:
Erzeugung von Krankheitszuständen durch das Experiment.
Teil 12, Tumoren I.
= Heffter/Heubner, Handbuch der experimentellen Pharmakologie,
Bd. XVI/12, S. 143 - 159, 387 - 389.
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1966

Bielschowski, F.:
Brit. J. exp. Path. 25, (1944), 27, 90 (1944)
zit. bei Bielka

Bjidanes, L. F., G. W. Chang:
Mutagenic activity of quercetin and related compounds.
Science 197, 557-678 (1977)

Bobst, A. M., T. V. Wang, P. A. Cerutti:
Mechanism of reaction of carcinogen N-acetoxy-2-acetylaminofluorene with DNA.
Experientia 37, 597-598 (1981)

Borek, E., Srinivasan, P. R.:
Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol. 5, 157-189 (1969)
zit. bei Pfohl-Leszkowicz

Cox, W. H.:
J. Nutrition 13, 244 (1947)
zit. bei Bielka

Dunn, T. B.:
Am. Ass. Adv. Sci. 22, 13 (1945)
zit. bei Bielka

Felix, W.:
Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
auf die Ödembildung durch Ethoxysklerol und Thiopental
am Hinterlauf der Katze.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse. S. 93-102.
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1978

Felix, W.:
Actions of thiopental, etacrynic acid and polidocanol on edema formation
and their inhibition by aescin and hydroxyethylrutoside (HR).
2nd World Congress for Microcirculation and
25th Anniversary of the Microcirculatory Society (USA).
Microvasc. Res. 17 (3.2.), S. 127 (1979)

- Fritz-Niggli, H.:
Rutoside und strahleninduzierte Tumorrepression:
Differenzierte Reaktion maligner und gesunder Zellen.
In: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.):
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse, S. 169-180.
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1978
- Fritz-Niggli, H., E.Fröhlich:
Reduktion der strahleninduzierten Frühschäden der Haut
durch O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside.
Fortschr. Röntgenstr. 133/3, 316-321 (1980)
- Gábor, E.:
Antioxidative Wirkung der Flavonoide bei der Ascorbinsäureoxidation.
In: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.):
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse, S. 25-30.
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1978
- Graziani, Y., R.Chayoth, N.Karny:
Regulation of protein kinases activity by quercetin in Ehrlich ascites tumor cells.
Biochem. Biophys. Acta 714, 415-421 (1982)
- Gschwendt, M., F.Horn, W.Kittstein, F.Marks:
Inhibition of the calcium- and phospholipid-dependent protein kinase activity
from mouse brain cytosol by quercetin.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 117, 444-447 (1983)
- Hammersen, F.:
Zur Ultrastruktur experimenteller Ödeme
und deren Beeinflussung durch O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside.
In: W.Voelter, G.Jung (Hrsg.):
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse, S. 103-120.
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1978
- Hirose, M., S.Fukushima, T.Sakata, M.Inui, N.Ito:
Effect of quercetin on two-stage carcinogenesis of the rat urinary bladder.
Cancer Letters 21, 23-27 (1983)
- Hirino, J., I.Ueno, S.Hosaka, H.Takanasaki, I.Matsushima, T.Sugimara, S.Natori:
Carcinogenicity examination of quercetin and rutin in ACI rats.
Cancer Letters 13, 15-21 (1981)
- Hoffmann, G.:
Kurzer Abriß der Anatomie und Physiologie der Laboratoriums-Tiere.
Fischer Verlag, Jena, 1956
- Horvath, M., T.Bakács:
Effect of cytostatics on the migration of leukocytes.
Oncology 39, 29-30 (1982)
- Hosaka, S., J.Hirano:
Carcinogenicity test of quercetin by pulmonary-adenoma bioassay in Starin-A-mice.
Gann 72, 327-238 (1981)

Jones, E., R.E.Hughes:

Quercetin, flavonoids and the life-span of mice.
Exp.Gerontology 17, 213-217 (1982)

Kallenbach, H.:

Minderung der natürlichen Krebsabwehr durch Zytostatika.
Med.Klinik 59, 140-142 (1964)

Kato, H., T.Nakadate et al.:

Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion
and ornithine decarboxylase activity by quercetin:
possible involvement of lipoxygenase inhibition.
Carcinogenesis 4/10, 1301-1305 (1983)

Kim, J.H., S.H.Kim, et al.:

Quercetin, an inhibitor of lactate transport
and a hyperthermic sensitizer of Hela cells.
Cancer Res. 44, 102-106 (1984)

Lahann, H., H.Purucker:

Bioflavonoide Vitamin P.

In: R.Ammon, W.Dirschel (Hrsg.):

Fermente - Hormone - Vitamine. Bd. III/1, S. 936-983.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971

Lapeyre, I.N., F.F.Becker:

Biochem. Biophys. Res. Comm. 87, 698-705 (1979)
zit. bei Pfohl-Leszkowicz

Levine, A.F., M.L.Fink, I.B.Weinstein, D.Grunberger:

Effect of N-2-acetylaminofluorene modification
on the conformation of nucleic acids.
Cancer Res. 34, 319-327 (1974)

Levy, J., I.Teuerstein et al.:

Tyrosine protein kinase activity in the DMBA-induced rat mammary tumor:
Inhibition by quercetin.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 123? 1227-1233 (1984)

Löhrke, H., B.Hesse, K.Goerftler:

Spontaneous tumours in male and female specifies pathogen-free Sprague-Dawley rats
(out bred stock sut: SDT).
Z. Versuchstierk. 24, 225-230 (1982)

Miller, E.C., I.A.Miller:

Cancer Res. 12, 547 (1952)
zit. bei Bielka

Miller, E.C., I.A.Miller:

Mechanism of chemical carcinogenesis.
Cancer 47, 1055-1064 (1981)

Morino, K., N.Matsukura et al.:
Carcinogenicity test of quercetin and rutin in golden hamsters
by oral administration.
Carcinogenesis 3, 93-97 (1982)

Nagao, M., N.Morita et al.:
Mutagenicities of 61 flavones and 11 related compounds.
Mutagenesis 3, 401-419 (1981)

Nishino, H., A.Iwashima et al.:
Inhibition by quercetin
of the promoting effect of teleocidin
on skin papilloma formation in mice
initiated with 7,12-dimethyl-benanthracene.
Gann 75, 113-116 (1984)

Nishino, H., A.Nishino et al.:
Quercetin inhibits
the action of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, a tumor promotor.
Oncology 41, 120-123 (1984)

Pallaske, G.:
Pathologische Histologie.
Fischer Verlag, Jena, 1960

Pfohl-Leszkowicz, A., et al.:
Mechanism of inhibition of enzymatic deoxyribonucleic acid methylation
by 2-(acetyl amino)-fluorene bound to deoxyribonucleic acid.
Biochemistry 20, 3030-3024 (1981)

Pischnamazzadeh, M.:
Zur Prophylaxe strahleninduzierter Hautreaktionen bei Patienten mit Mammatumoren.
Strahlentherapie 159, 9-12 (1983)

Riggs, A.D.:
Cytogenet. Cell Genet. 14, 9-25 (1975)

Sandritter, W.:
Histopathologie.
Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1974

Scarano, E.:
Adv. Cytopharmacol. 1, 13-24 (1971)
zit. bei Pfohl-Leszkowicz

Schmähl, D.:
Maligne Tumoren, Entstehung, Wachstum, Chemotherapie.
Edition Cantor, Aulendorf, 1981

Skoryna, S.C., D.R.Webster:
Proc. Soc. exp.Biol.Med. 78, 62 (1951)
zit. bei Bielka

Spreafico, F., A.Mantovani:
Immunomodulation by cancer chemotherapeutic agents and antineoplastic activity.
Pathobiol.Ann. 11, 177-195 (1981)

Stacher, A., D.Lutz:
Antineoplastische Chemotherapie.
In: H.P.Kuemmerle, G.Hitzenberger, K.H.Spitzzy (Hrsg.):
Klinische Pharmakologie. Grundlagen, Methoden, Pharmakotherapie.
Lehr- und Handbuch für Klinik und Praxis. IV-5.3.
ecomed Verlag, Landsberg/München, *1984

Wilson, R.H.:
Cancer Res. 1, 595 (1941)
zit. bei Bielka

Yamasaki, H., S.Leffler, I.B.Weinstein:
Effect of N-2-acetylaminofluorene modification
on the structure and template activity
of DNS and reconstituted chromatin.
Cancer Res. 37, 684-691 (1977)

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Felix danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung. Mein weiterer Dank gilt seinen Mitarbeiterinnen Frau Steigerwald und Fraulein Schubert sowie Herrn Wunsch.

Lebenslauf

Uwe Karlheinz Müller, geb. am 28. Juni 1952 in Schulzendorf.

Eltern: Artur Müller und Charlotte Müller, geb. Hirte

1958	Umzug nach München/Ottobrunn
1959 - 1963	Besuch der Volksschule in Ottobrunn
1963 - 1973	Besuch des Asam-Gymnasiums in München
1973	Abitur am Asam-Gymnasium
1973/1974	Wehrdienst in Ulm
1974 - 1977	Studium der Physik an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1977 - 1982	Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1982	Staatsexamen und Approbation
z.Zt.	Entlastungsassistent in München

